

氏 名	本 橋 範 子 もと はし のり こ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 203 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	エルゴチオネインの錯生成反応ならびに放射線防護効果に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 田 中 久 教 授 宇 野 豊 三 教 授 大 崎 健 次

論 文 内 容 の 要 旨

1909年, Tanret によってライ麦の麦角からはじめて分離されたエルゴチオネインは, 2-メルカプトヒスチジンのベタインという極めてユニークな構造をもつ化合物である。現在までのところメルカプトイミダゾール化合物として天然において発見された唯一のもので, 微生物, 穀物, 動物等, 自然界に広く分布している。哺乳動物においてタンパク構成成分以外で硫黄化合物としての組織含量は, グルタチオンについて多く, 赤血球, 肝臓, 腎臓の他, ほとんどすべての組織に存在している。このように幅広い存在が確認されているにもかかわらず, 動物体内での生合成は認められず, さらにその生物活性については, システインやグルタチオン等のチオール化合物との関連を含めて種々の知見が得られているにもかかわらず, 不明な点が多くその生体内での存在意義は解明されていない。一方, 物理化学的性質については, 非常に小さい酸化還元電位, 紫外外部吸収およびチオール試薬に対する反応が陰性であることなどから, 典型的チオール化合物とはかなり異なっていることが知られているのみであって, 構造, 物理化学的性質, 反応性, 生物活性などを関連づけて考察するための資料は極めて乏しい。そこで著者は, エルゴチオネインの生物学的意義の解明のための基礎として, 生物活性に重要な意義を有すると考えられる硫黄含有基の存在状態, および二, 三の物理的, 化学的性質の検討を計画した。

1) 酸解離平衡と構造 エルゴチオネインの酸解離定数およびイオン平衡を電位差滴定, UV スペクトル, ラマンスペクトルおよび CMR スペクトルを用いて検討したところ, カルボキシル基と N-トリメチル基とによって zwitter ion として存在しているエルゴチオネインのアルカリ滴定曲線から算出された酸解離定数 ($pK_a = 10.50$) は, 脂肪族チオールの値とはほぼ同じであったが, ラマンスペクトルにおける吸収帯の欠如, 258nm での特徴的紫外吸収, さらに CMR スペクトルでの解離にともなう3つのイミダゾール炭素のシフトの違いから, イミダゾールチオン構造をとっていることが明らかとなり, さらにアルカリ性領域ではプロトンの解離によって, イミダゾールチオンは 1-H Tautomer のチオレイトアニオンとして存在していることが示された。

2) 金属イオンとの錯生成反応 生体組織中でフリーな形で存在しているエルゴチオネインと金属の反応は、金属含有酵素の活性阻害および Cu(II) の精子運動作用や解糖作用に対する抑制効果の除去等に関連して興味をもたれたので数種の 2 価の遷移金属イオンとの錯生成反応を、電位差滴定法、PMR および CMR スペクトル法、ラマンスペクトル法によって検討した。エルゴチオネインは、これらの金属とチオレイト硫黄を通じて配位した 2 : 1 の錯体を生成すること、さらにその錯体の安定性は $\text{Cu}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} \geq \text{Ni}^{2+}$ の順であることが明らかになった。さらに錯体の立体配置を検討するため、濃青色の Co(II) 錯体について可視および赤外スペクトルを測定した。595 および 1285nm での吸収および強度 $\epsilon_{595\text{nm}}=410$, $\epsilon_{1285\text{nm}}=125$ からそれぞれ ${}^4\text{A}_2 \rightarrow {}^4\text{T}_1(\text{P})$ と ${}^4\text{A}_2 \rightarrow {}^4\text{T}_1(\text{F})$ 遷移に帰属し、配位子場分裂因子 ($D_q=453\text{cm}^{-1}$) とラッカーの電子間反発因子 ($B=724\text{cm}^{-1}$) を算出した結果、コバルト錯体は硫黄で配位したゆがんだ四面体構造をとっていることが示された。ついで Cu^{2+} との錯生成反応を、チオールによる酸化還元錯生成反応との関連から、電子スペクトル、ESR および CMR スペクトルによってさらに詳細に検討した。Cu(II) に対してエルゴチオネインが等モル存在すると緑色の銅錯体が、2 モルかそれ以上の配位子が存在すると黄色の銅錯体が生成した。緑色錯体は、Cu(II) の d-d 遷移に帰属される 675nm での非対称なピークと、ESR スピンハミルトニアンパラメーター ($g_{11}=2.246$, $g_{\perp}=2.068$, $A_{11}=158\text{G}$) によって、硫黄をドナー原子とした典型的 Cu(II) 錯体であることが明らかになった。一方、黄色錯体は CMR スペクトルの測定によって、チオレイト硫黄を通じて Cu(I) と配位していることが示され、イミダゾールチオンにおいてもチオールと同様の酸化還元錯生成反応が認められた。

(3) 放射線防護効果 エルゴチオネインが酸化剤に対して高い抵抗性を示すことから、生体組織での酸化作用に対する防禦機能に注目し、メトミオグロビンに対する放射線防護効果をシステインやシステアミンのようなチオール化合物のそれと比較検討した。褐色のメトミオグロビンはヘム鉄 3 価であるが、γ 線照射によって輝赤色でヘム鉄 4 価のフェリルミオグロビンに変化した。フェリルミオグロビン生成の完全な抑制は、メトミオグロビンに対してエルゴチオネインが 10 倍モル濃度存在した時認められたが、システインやシステアミンでは 30 倍モル濃度必要であった。さらに放射線防護濃度を越えてシステインが添加されると、異常な血液色素である緑色のスルファミオグロビンの形成がみられた。しかしエルゴチオネインでは 1000 倍モル過剰においてもスルファミオグロビンは全く形成されなかった。そしてそのスルファミオグロビンの形成には、チオンあるいはチオールとしての反応性が寄与していると考えられた。

以上述べてきたように、イミダゾールチオンとして存在するエルゴチオネインは、その硫黄含有基がチオンあるいはチオレイトイオンとして作用することによって、システインやグルタチオンのような典型的チオール化合物とは異なった反応を示すが、一方、チオールとしての性質も示した。このチオン⇌チオールとしての反応性が生体内において極めて重要な意味を持っているのではないかと思われ、今回得られた結果は、今後のエルゴチオネインの生物活性解明のためにひとつの有用な資料となり得ると思われる。

論文審査の結果の要旨

本研究の内容は、生体内に広く分布する特殊な硫黄化合物であるエルゴチオネインの物理化学的性質に関するものである。

著者はエルゴチオネインが2-メルカプトヒスチジンのペタインというユニークな構造を有し、通常のチオール化合物と種々の点で異った性質を示すことに着目し、その硫黄含有基の存在状態を調べるため、まずその酸解離平衡を検討し、エルゴチオネインはイミダゾールチオン構造をとっていることを示した。

次いでエルゴチオネインの生物活性に関連があると考えられる金属イオンとの錯生成反応を検討した。まず、 Cu(II) 、 Hg(II) 、 Zn(II) 、 Co(II) 、 Ni(II) との錯体の安定度定数を測定し、かつそれらにおいて硫黄が配位に関与していることを示した。さらに Co(II) 錯体について吸収スペクトルの解析結果からゆがんだ四面体構造をとっていることを明らかにし、 Cu^{2+} との反応では、 Cu(II) 錯体の生成とともに酸化還元錯生成反応により、 Cu(I) 体をも生成することを見出した。

著者は次いでエルゴチオネインの放射線防護効果を、メトミオグロビンの γ 線照射による変化の抑制を指標とし、従来より知られている放射線防護剤の効果と比較しつつ検討し、エルゴチオネインが秀れた効果を有することを示すとともに従来からの放射線防護剤の強い毒性の原因を推定した。

以上の知見は、いくつかの顕著な生物活性を示しながら、その生体内での存在意義がまだ明確にされていないエルゴチオネインの特徴的な性質の一端を明らかにしたもので、生物無機化学的観点からみて意義あるものと考えられる。

よって、本研究は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。